

镜检复片,准确划分单核细胞计数,准确确定 LMR 数据,确保血常规中白细胞分类结果的准确性具有临床参考价值,建议人工镜检复片分析肿瘤患者血细胞形态数据,必须成为日常工作中必不可少的一个重要环节。

参考文献

- [1] 张亮,吴振安,付慧哲.全自动血细胞分析仪白细胞分类计数与手工分类计数结果一致性的比较分析[J].中国临床医生杂志,2016,44(4):96-98.
 - [2] 张爱岐,金时,曹守波,等.淋巴细胞/单核细胞比值对恶性肿瘤患者预后评估的研究进展[J].实用肿瘤学杂志,2017,31(2):188-192.
 - [3] OZAWA T,LSHIHARA S,KAWAI K,et al. Impact of a lymphocyte to monocyte ratio in stage IV colorectal cancer [J]. J Surg Res,2015,199(2):386-392.
 - [4] ZHOU X,DU Y,XU J,et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcomes in patients with stage II/III gastric cancer[J]. Tumour Biol,2014,35(11):11659-11666.
 - [5] BOTTA C,BARBIERI V,CILIBERTO D,et al. Systemic inflammatory status at baseline predicts bevacizumab benefit in advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Cancer Biol Ther,2013,14(6):469-475.
 - [6] HU P,SHEN H,WANG G,et al. Prognostic significance of systemic inflammation-based lymphocyte-monocyte ratio in patients with lung cancer: based on a large cohort study[J]. PLoS One,2014,9(9):e108062.
 - [7] STOTZ M,SZKANDERA J,STOJAKOVIC T,et al. The
- 短篇论著 •

- lymphocyte to monocyte ratio in peripheral blood represents a novel prognostic marker in patients with pancreatic cancer[J]. Clin Chem Lab Med,2015,53(3):499-506.
- [8] 钱门龙,卢宁.淋巴细胞与单核细胞比值与恶性肿瘤预后的关系[J].国际肿瘤学杂志,2016,43(10):769-771.
 - [9] 吴朔,姜翠,徐君南,等.淋巴细胞/单核细胞比值在三阴性乳腺癌预后评估中的临床研究[J].现代预防医学,2016,43(15):2855-2858.
 - [10] 王秀娟,苑中甫,邱海峰,等.术前外周血淋巴细胞/单核细胞比值与上皮性卵巢癌患者预后的关系[J].现代妇产科进展,2016,9(25):654-657.
 - [11] 陈建霞,黄衍锋,张旭. XE-5000 全自动血细胞分析仪检测白细胞分类与人工镜检结果对比分析[J].中国当代医药,2015,22(4):124-126.
 - [12] 刘文仲,徐豪志,李郁文.探讨血涂片镜检在血常规检验中的重要作用[J].医学理论与实践,2015,28(14):1930-1931.
 - [13] 陈旭芳.粒细胞集落刺激因子对肿瘤化疗患者白细胞数及医院感染的影响[J].中国肿瘤临床与康复,2009,21(3):198-99.
 - [14] 王凤,刘爽,万丽平,等. Sysmex XE-5000 血细胞分析仪对异型淋巴细胞和嗜碱性粒细胞的报警提示分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(22):3253-3254.
 - [15] 肖叙平.全自动血细胞分析仪与血涂片细胞形态学在血常规检验中的应用价值[J].中国医疗器械信息,2016,22(15):37-39.

(收稿日期:2018-03-13 修回日期:2018-05-28)

高通量测序技术对 60 例不明原因智力低下、生长落后患儿的病因学分析

张玉坤¹,雷冬竹^{2△},张昊晴²,李彩云²

(1. 南华大学附属郴州医院,湖南衡阳 421000;2. 郴州市第一人民医院产前诊断中心,湖南郴州 423000)

摘要:目的 探讨 60 例不明原因智力低下、生长落后患儿的分子遗传学病因。方法 收集 2014 年 10 月至 2017 年 7 月来南华大学附属郴州医院产前诊断中心就诊的 60 例不明原因智力低下、生长落后患儿,采集患儿外周血,分别进行染色体核型分析和高通量基因测序检测。结果 60 例患儿其常规染色体核型分析结果均未见异常。高通量测序结果发现明确为染色体微缺失/微重复综合征 10 例,其中包括单纯微缺失片段 7 例,微重复片段 2 例,微缺失和微重复同时存在 1 例,另外发现疑似致病变异 1 例。结论 通过高通量测序技术发现染色体微缺失微重复综合征是不明原因智力低下、生长落后患儿的主要遗传学病因之一,提示高通量测序技术有助于提高对患儿遗传学病因的诊断。

关键词:智力低下; 生长落后; 高通量测序技术; 染色体微缺失微重复综合征

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.19.027

中图法分类号:R749.94

文章编号:1673-4130(2018)19-2439-04

文献标识码:B

智力低下(ID),又称为智力障碍,是发生在发育期内,以 18 周岁前起病、认知功能障碍(IQ 值 < 70 分),同时伴有社会适应能力缺陷为特征的疾病。在

学龄前(5 岁以前)可表现为运动、认知和语言发育迟缓,也称为生长发育迟缓(DD),表现为生长发育过程中出现速度放慢或是顺序异常等现象。全球总发病

△ 通信作者, E-mail:1464779215@qq.com。

率约为 2%~3%。病因复杂表型多样,可由遗传、环境、围生期缺氧损伤等引起,但仍有 50% 的患儿病因不明确^[1]。有文献报道大约有 25%~50% 的患者是由遗传因素所导致^[2],主要包括染色体数目或结构异常、单基因病和多基因病。尤以染色体异常多见,据国外相关文献报道,有 12% 左右的不明原因发育迟缓、智力低下及多发畸形被诊断为是由染色体微缺失/微重复所致^[3]。染色体微缺失微重复综合征(MMS)是由于染色体微结构异常所致的遗传性疾病,其缺失和重复的片段一般小于 5 Mb,低于染色体显带检查分辨率的下限,因此使用传统的染色体检测方法无法或较难发现,通常在临床上容易被漏检。本研究共收集不明原因 ID/DD 患儿 60 例,分别利用传统染色体核型分析及新一代高通量测序技术,对患儿进行遗传学病因检测,为进一步明确病因诊治及遗传学咨询提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 10 月至 2017 年 7 月来南华大学附属郴州医院产前诊断中心就诊的患儿 60 例为本次研究对象,其中男 44 例,女 16 例,男女比例 3:1,年龄 0~19 岁。主要临床表现为智力低下,精神运动发育迟缓,生长迟缓,合并或不合并其他畸形。所有的患儿均排除了常见的内分泌及遗传代谢性疾病。并根据不同的年龄阶段,分别采用《Gesell 发育量表》和《中国韦氏智力量表》测定儿童的发育商(DQ)或智商(IQ)并同时运用《婴儿—初中生社会适

应性能力量表》进行社会适应性能力评估。IQ 或 DQ<70,伴社会适应性能力低下者诊断为 ID;大于 5 岁称为 ID,小于 5 岁称为 DD;以下统称为 ID/DD。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 采用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管采集患儿外周血 10 mL,分别进行外周血培养染色体 G 显带分析和高通量测序的全基因测序检测。

1.2.2 外周血培养染色体 G 显带分析 进行淋巴细胞培养,常规制片,G 显带,每例计数分散较好的 30 个中期分裂相细胞,分析 3~5 个核型,显微镜下进行染色体核型分析。

1.2.3 高通量测序的全基因测序检测 提取基因组 DNA 进行文库构建,并使用 BGISEQ-500 测序平台进行全基因组测序,测序数据通过与正常样本数据比较分析,找出检测样本基因组上出现微缺失及微重复片段,并进行准确定位。

2 结果

在 60 例不明原因 ID/DD 患儿中常规染色体 G 显带检查结果均提示正常染色体核型。高通量基因测序检测结果发现明确为染色体微缺失/微重复综合征 10 例,阳性数占总人数的 16.7%,包括单纯微缺失片段 7 例,微重复片段 2 例,微缺失和微重复同时存在 1 例。其中 1 例确诊为 16p11.2 微缺失综合征,1 例为 Williams-Beuren 综合征,1 例为 MECP2 重复综合征,2 例为 Phelan-Mcdermid 综合征。见表 1。

表 1 高通量测序阳性结果

序号	综合征	类型	性别	年龄(岁)	染色体位置	片段大小	致病基因
1	微重复 2q12.1q22.1	dup	男	4	2q12.1q22.1	32.21 Mb	—
2	16p11.2 微缺失综合征	del	女	5	16p11.2	758.06 kb	—
3	MECP2 重复综合征	dup	男	5	Xq28	922.62 kb	MECP2
4	Williams-Beuren 综合征	del	女	11	7q11.23	1.51 Mb	ELN,LIMKI,RFC2,GFF2IRD1/GTF21,FKBP6
5	微缺失 5p14.1p15.2	del	男	11	5p14.1p15.2	15.01 Mb	—
6	微缺失 7q32.3q35	del	男	1	7q32.3q35	27.96 Mb	—
7	Phelan-Mcdermid 综合征	del	女	6	22q13.31q13.33	6.26 Mb	SHANK3, NOTCH, AGPAT2, GRIN1, SLC34A3, NELF, EHMT, DPM3, MUC1, GBAPKLR, RIT1, LAMTOR2, LANA, SEMA4A
8	微缺失 1q21.3q23.1	del	男	8	1q21.3q23.1	1.57Mb	DPM3, MUC1, GBA, PKLR, RIT1, LAMTOR2, LMNA, SEMA4A
9	微缺失 14q32.33	del	男	16	14q32.33	1.95 Mb	TEX22, MTA1, CDA4, C14orf80, NUDT14, C14orf79, PACS2, JAG2, BRF1, GPR132, AHNAK2, ELK2AP, CRIP1, BTBD6, TMEM121, CRIP2
	微重复 16q24.2q24.3	dup	男	16	16q24.2q24.3	2.34 Mb	—
10	Phelan-Mcdermid 综合征	del	男	3	22q13.31q13.33	6.26 Mb	SHANK3, TUBGCP6, ARSA, ATXN10, ALG12, MLC1

注:—表示无数据

3 讨论

MMS 是由于染色体微结构异常所导致的具有复杂临床表现的遗传性疾病,包括 DNA 片段的缺失和重复,其片段大小可以从几个 kb 到 Mb,一般小于 5 Mb,其临床表现主要包括发育异常、智力发育迟缓、特殊面容、多发器官畸形和精神行为改变等,目前,全球已报道了近 300 种 MMS,发病率为 1/4 000~

1/50 000,在基因组疾病中最常见,大部分微缺失微重复为新发的(约 90%),少数为父母遗传(约 10%)^[4]。

本研究分别应用了传统染色体核型分析技术和高通量测序技术对 60 例不明原因 ID/DD 患儿进行检测,传统染色体核型分析结果均未见异常,传统的染色体核型分析是染色体疾病诊断的金标准,也是目前开展最广泛的产前诊断技术,具有很高的准确性,

能检出大部分染色体的数目及结构异常,但是受其检测方法限制,核型分析只能分辨染色体上 5~10 Mb 以上的 DNA 片段异常^[5],很难对 MMS 做出明确的遗传学诊断。随着新一代高通量测序技术和生物信息分析技术开展,新一代高通量测序技术成为新的染色体疾病检测手段,它能一次对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测定,反应后每一条产生的信号可以同时进行检测,所获得的测序数据经计算机分析即可获得完整的 DNA 序列信息^[6]。通过对全基因组覆盖性检测,可以解析出详细的基因图谱,从而得到更为准确的基因变化信息。并通过测序深度调整,可以检测 100 kb 以上的染色体微缺失、微重复异常,有关报道显示,不但可以同时检测目前已知所有综合征的微缺失微重复关键区,还可以通过检测发现新的微缺失微重复^[7]。相比较传统的染色体核型分析,新一代高通量测序技术具有高通量、高效率、高敏感和高分辨率的特点。本研究利用新一代高通量测序技术对 60 例不明原因智力低下、生长落后患儿进行全基因组测序,发现 10 例为染色体微缺失/微重复综合征,为 16.7% 的患儿明确了病因诊断。

Williams-Beuren 综合征是 7 号染色体长臂近着丝粒端片段 7q11.23 微缺失引起,缺失大小一般介于 1.5~1.8Mb,累及 26~28 个基因,发病率约为 1/10 000^[8]。在微缺失综合征中比较常见,主要临床表现有:智力低下(平均 IQ56)、心血管异常(主动脉瓣狭窄)、特殊面容(面中部平坦、眶周丰满、鼻梁凹陷、鼻孔前倾、厚嘴唇、小牙或牙齿发育不全)、高钙血症、糖尿病、甲状腺功能异常等^[9]。ELN 基因的缺失是导致该病心血管异常的主要致病基因,GTF2I 基因与认知能力有关,GTF2IRD1 与视觉运动整合能力有关,而 GTF2IRD1/GTF2I 基因与特殊面容有关^[10],例 4 为 11 岁男性患儿,因智力低下、特殊面容就诊,染色体核型分析无异常,经高通量测序技术检测发现染色体 7q11.23 存在一个大小约 1.51 Mb 微缺失,该区域存在多个致病基因,包括 ELN、LIMK1、RFC2、GTF2IRD1/GTF2、FKBP6 等,均与 Williams-Beuren 综合征有关,完善相关检查,发现该患儿存在二尖瓣关闭不全,因此该患儿诊断 Williams-Beuren 综合征明确,需定期复查相关检查,必要时手术治疗。

MECP2 重复综合征是由 MECP2 基因重复突变导致的疾病,MECP2 基因位于 X 染色体长臂 2 区 8 带。主要临床表现为患者多为男性,运动发育落后、中度至重度智力障碍、婴儿早期肌张力低下、面部畸形、反复呼吸道感染、癫痫等^[11]。MECP2 重复综合征发病率不明,目前报道的 MECP2 重复综合征患者约 200 例。MECP2 重复综合征尚没有统一的诊断标准,主要根据临床表现及基因检测确诊,例 3 为 5 岁男性患儿,因智力低下就诊,染色体核型分析无异常,经高通量测序技术检测发现 X 染色体长臂部分片段存在一个大小约 922.62 Kb 微重复,目前该患儿未发现其

他异常,应继续观患者一般情况,目前 MECP2 重复综合征缺乏有效的治疗手段,主要采取对症、支持治疗。

16p11.2 缺失综合征是发生在 16 号染色体短臂 1 区 1 带 2 亚带上不同大小片段的缺失,缺失片段大小约 500~600 kb,人群发病率约为 0.5%^[12]。主要临床表现包括语音发育迟缓、认知功能障碍、先天发育异常、孤独症、半椎体畸形等^[12]。该区段包含的基因有 SPN、QPRT、C16orf54、KIF22、MAZ、SEZ6L2、CDIPT、ASPHD1、KCTD13、TMEM219、TAOK2、DOC2A、TBX6 等。例 2 为 5 岁女性患儿,因生长发育落后、孤独症就诊,询问病史,胎儿期发现半椎体发育不良。染色体核型分析无异常,经高通量测序技术检测发现第 16 号染色体短臂部分缺失,缺失片段大小约 758.06 kb,该患儿诊断 16p11.2 缺失综合征明确。

Phelan-McDermid 综合征又称为 22q13 缺失综合征,是由于 22 号染色体长臂末端完全或不完整缺失导致的,缺失片段一般在 185 kb~9 Mb,目前有超过 600 例被报道^[13]。主要临床表现包括新生儿肌张力低下、发育迟缓、严重的语音发育迟缓及外观异常、部分患者有斜颈、斜头畸形、肾积水等。BONAGLIA 等^[14]首次报道 SHANK3 可能是导致 22q13 缺失综合征的主要致病基因。例 7 为 6 岁女性患儿,例 10 为 3 岁男性患儿,均因智力低下就诊,染色体核型分析均无异常,经高通量测序技术检测均发现第 22 号染色体长臂部分缺失,缺失片段大小约 6.26Mbp。询问病史,发现 2 例患者均有斜颈、断掌、双肾轻度积水。例 7 患儿 6 岁目前仍不会说话,只能明白简单话语。目前针对 Phelan-McDermid 综合征的临床治疗还没有特殊有效治疗方法,主要是对症康复治疗。

ID/DD 患儿的出生给家庭及社会带来沉重的精神及经济负担,而其病因的复杂性加重了疾病的诊断和预防。高通量测序技术能够检测出常规染色体核型不能发现的染色体微缺失和微重复,从而大大提高了染色体结构异常的检出率。本研究利用新一代高通量测序的全基因组测序技术,对不明原因 ID/DD 患者的相关基因突变进行检测,对发现的基因变异进行分子遗传学探讨研究,提高对疾病的认识,进行早期诊断、早期干预和治疗,其次,对于复杂的临床表型,可辅助临床诊断,帮助医生和患者明确疾病发生原因,以便选择更好的治疗方案,另外对于已经明确先证者致病基因突变的家庭,再次怀孕时可取代绒毛、羊水或脐血,提取基因组这些样本的 DNA,对胎儿进行已知突变基因检测,明确是否重复先证者的突变,进行推测胎儿是否可能患病。

4 结 论

通过高通量测序技术发现 MMS 是不明原因智力低下、生长落后患儿的主要遗传学病因之一,提示高通量测序技术有助于提高对患儿遗传学病因的诊断。

参考文献

[1] SHAFFER L G. American college of medical genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation[J]. Genet Med, 2005, 7(9):650-654.

[2] SROUR M, SHEVELL M. Genetics and the investigation of developmental delay/intellectual disability[J]. Arch Dis Child, 2014, 99(1):386-389.

[3] MILLER D T, ADAM M P, ARADHYA S, et al. Consensus statement; microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies[J]. Am J Hum Genet, 2010, 86(5):749-764.

[4] WEISE A, MRASEK K, KLEIN E, et al. Microdeletion and microduplication syndromes [J]. J Histochem Cytochem, 2012, 60(5):346-358.

[5] 夏家辉,戴和平,李麓芸,等. 人体细胞遗传学技术的推广和应用[J]. 医学研究杂志, 2000, 29(10):14-15.

[6] FEUK L, CARSON A R, SCHERER S W. Structural variation in the human genome[J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(1):85.

[7] 王彦林,程蔚蔚. 高通量二代测序在预防出生缺陷产前诊断中的作用[J]. 中国计划生育和妇产科杂志, 2016, 8(1):1-5.

[8] POBER B R. Williams-Beuren syndrome [J]. N Eng J

Med, 2010, 362(3):239-252.

[9] GRAY J C, KRAZINSKI A W, SCHOEPF U J, et al. Cardiovascular manifestations of Williams syndrome; imaging findings[J]. J Cardiovasc Comput Tomogr, 2013, 7(6):400-407.

[10] DELIO M, POPE K, WANG T, et al. Spectrum of elastin sequence variants and cardiovascular phenotypes in 49 patients with Williams-Beuren syndrome [J]. Am J Med Genet A, 2013, 161(3):527-533.

[11] RAMOCKI M B, TAVYEV Y J, PETERS S U. The MECP2 duplication syndrome[J]. Am J Med Genet A, 2010, 152(5):1079-1088.

[12] BIJLSMA E K, GIJSBERS A C, SCHUURS-HOEIJMAKERS J H, et al. Extending the phenotype of recurrent rearrangements of 16p11. 2; deletions in mentally retarded patients without autism and in normal individuals[J]. Eur J Med Genet, 2009, 52(2/3):77-87.

[13] PHELAN K, Medernid H E. The 22q13. 3 deletion syndrome (Phelan-McDermid syndrome)[J]. Mol Syndromol, 2011, 22(2):186-201.

[14] BONAGLIA M C, GIORDA R, BORGATTI R, et al. Disruption of the ProSAP2 gene in at(12;22)(q24. 1;q13. 3) is associated with the 22q13. 3 deletion syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2002, 69(2):261-268.

(收稿日期:2018-02-20 修回日期:2018-04-28)

• 短篇论著 •

炎症性青光眼患者血清与房水 IL-34、IL-6 水平的变化及意义

唐 靖,白克吐尔·阿布力米提

(新疆克孜勒苏自治州人民医院眼科,新疆阿图什 845350)

摘要:目的 研究血清和房水白细胞介素-34(IL-34)、白细胞介素-6(IL-6)在炎症性青光眼中的表达及临床意义。方法 选择新疆克孜勒苏自治州人民医院收治的炎症性青光眼患者 60 例(60 眼)为观察组,另选该院同期收治的老年性白内障患者 60 例(60 眼)为对照组,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测两组血清和房水中的 IL-34、IL-6 水平,同时探讨观察组患者房水 IL-34、IL-6 水平的相关性。结果 观察组血清 IL-34 水平为(23.01±3.24)ng/L,对照组血清 IL-34 水平为(22.73±3.18)ng/L,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$);观察组血清 IL-6 水平为(17.74±2.67)ng/L,对照组血清 IL-6 水平为(17.68±2.52)ng/L,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组房水 IL-34 水平为(123.41±5.81)ng/L,明显高于对照组房水 IL-34 水平(44.02±4.17)ng/L,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组房水 IL-6 水平为(68.92±4.03)ng/L,明显高于对照组房水 IL-6 水平(37.38±3.56)ng/L,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组房水 IL-34 与 IL-6 呈正相关($r=0.748, P<0.05$)。结论 房水 IL-34、IL-6 水平在炎症性青光眼患者中存在明显高表达,并两者呈正相关,可用于炎症性青光眼患者病情诊断及临床用药效果评价。

关键词:白细胞介素-34; 白细胞介素-6; 炎症性青光眼; 老年性白内障

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.19.028

中图法分类号:R775

文章编号:1673-4130(2018)19-2442-04

文献标识码:B

各种累及眼部(包括眼球内和眼眶)的炎症,都可 以破坏正常的房水循环而引起眼压升高,由此引起的